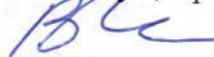


«УТВЕРЖДАЮ»



Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО "Нижегородский государственный  
университет им. Н.И. Лобачевского"  
доктор Физ-мат. наук, профессор

 В.Б. Казанцев

« \_\_ » июня 2017 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**ФГАОУ ВО "Национальный исследовательский Нижегородский  
государственный университет им. Н.И. Лобачевского"**

на диссертационную работу **Ламзина Ивана Михайловича «Динамика структурно-функциональных показателей эритроцитов трансфузионной среды в процессе хранения по данным атомно-силовой микроскопии»**, представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Диссертационная работа И.М. Ламзина представляет собой развернутое экспериментальное исследование изменений структурно-морфологических показателей эритроцитов трансфузионной среды в процессе ее хранения. Проводилось изучение совокупных параметров: влияние процесса консервации; динамики гематологических показателей трансфузионной среды; изменения структурно-морфологических и механических характеристик эритроцитов в процессе хранения трансфузионной среды.

### **Актуальность темы.**

Эффективность контроля качества компонентов крови является одной из важнейших проблем в современной трансфузиологии и гематологии, поскольку в процессе хранения происходит старение эритроцитов и, как следствие, снижение их функциональных и реологических характеристик. Вместе с тем, необходим процесс тщательной балансировки доступности и сохранения высокого качества трансфузиологической помощи. Поэтому необходимо разрабатывать новые подходы определения пригодности трансфузионных сред. Основными методами оценки качества трансфузионных сред, содержащих эритроциты, в настоящее время являются: измерение уровня свободного гемоглобина, гематокрита, оценка уровня остаточных лейкоцитов, степени гемолиза эритроцитов. Основной целью представленной работы является применение метода

атомно-силовой микроскопии для определения динамики изменений морфологических и механических характеристик эритроцитов трансфузионной среды в процессе хранения. Цель и задачи, сформулированные диссертантом, несомненно, являются актуальными.

#### **Новизна исследования, полученных результатов и выводов.**

В работе И.М. Ламзина впервые выявлены значительные изменения модуля Юнга и структуры эритроцитарной популяции трансфузионной среды в зависимости от срока хранения, доказано уменьшение упругости мембран эритроцитов при добавлении антикоагулянта к цельной крови и ее сепарации на компоненты.

Впервые установлено, что хранение образцов трансфузионной среды в течение стандартного срока приводит к двукратному росту модуля Юнга эритроцитов.

Обоснована возможность использования полученных данных в качестве референсных значений динамики модуля Юнга эритроцитов образцов трансфузионной среды. Приоритетность исследований подтверждена патентом РФ № 2542438 от 21.01.2015 г.

#### **Анализ содержания диссертации.**

Диссертация И.М. Ламзина изложена на 132 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиографический список содержит 168 источников, из которых 63 на русском и 105 – на иностранных языках. Диссертация иллюстрирована 12 таблицами и 47 рисунками.

Во **введении** автором аргументировано обоснована актуальность проблемы, которой посвящена диссертационная работа.

В главе 1 «**Обзор литературы**» представлен анализ данных литературы по трем направлениям: 1) основные принципы атомно-силовой микроскопии и области ее применения в биомедицинских исследованиях; 2) изменение биофизических и морфометрических показателей эритроцитов крови человека в процессе онтогенеза; 3) современные подходы к определению качества эритроцитсодержащих сред. Проведенный теоретический анализ выявляет некоторые пробелы в имеющихся на сегодняшний день знаниях, что позволило логично сформулировать задачи исследования. Вместе с тем, обзор литературы не свободен от некоторых стилистических погрешностей и

фактологических ошибок. Например, стр. 20: «биомолекулами мембран» - стилистическая погрешность, мембраны образованы органическими молекулами. Примеры фактологических ошибок: (1) стр. 16: «*S.aureus* и другие грамположительные микроорганизмы, обычно высевающихся со слизистых оболочек человека» - на самом деле носительство золотистого стафилококка на слизистых по эпидемиологическим данным не превышает 16–20% в популяции; (2) стр. 16: «наиболее значимыми свободными радикалами являются активные формы кислорода» - не названы конкретные свободные радикалы среди АФК, но далеко не все АФК являются свободными радикалами, кроме того, не упомянуты активные формы азота; (3) стр. 32: «пространственное разрешение в жидкой среде сильно ограничено» - фраза имела бы смысл, если бы речь шла о сканировании методом АСМ нанометровых объектов, для клеток ограничений по разрешению нет, но сканирование в физиологических средах дает возможность адекватно оценивать параметры живых клеток (в частности модуль Юнга) и наблюдать изменение клетки в динамике.

Глава 2 «**Материалы и методы исследования**» написан достаточно подробно, что позволяет воспроизвести все использованные автором методы без привлечения специальной литературы. В работе применен целый спектр современных, в том числе автоматизированных, методов исследования. В качестве недостатков можно отметить: (1) отсутствие указания критерия, по которому оценивалась принадлежность выборок к нормальному распределению; (2) избыточное количество демонстраций приборов, не имеющее отношение к научному содержанию работы; (3) используется не метод Герца, а модель Герца.

Глава 3 «**Результаты собственных исследований**» в диссертации разбита на пять подразделов. В первом из них рассматривается влияние процесса консервации на гематологические, биофизические и структурные показатели эритроцитов крови. Получен ряд данных об изменениях ригидности мембран эритроцитов крови человека, связанных с добавлением антикоагулянта, фракционированием и охлаждением компонентов крови до +4°C. Выявлено статистически значимое снижение средних арифметических значений модуля Юнга эритроцитов образцов цельной крови человека с  $3,23 \pm 0,02$  КПа до  $1,81 \pm 0,02$  КПа. Во втором, третьем и четвертом подразделах рассматривается динамика изменений гематологических показателей трансфузионной среды, модуля Юнга эритроцитов трансфузионной среды и структуры эритроцитарных популяций проб трансфузионной среды в процессе хранения. Результаты исследования продемонстрировали статистически

значимое увеличение средних арифметических значений концентрации эритроцитов от  $5,28 \pm 0,4 \times 10^{12}/\text{л}$  до  $7,19 \pm 0,9 \times 10^{12}/\text{л}$ , концентрации гемоглобина в среде от  $149,7 \pm 0,5$  г/л до  $192,1 \pm 1,7$  г/л, гематокрита с  $45 \pm 0,2\%$  до  $61,7 \pm 0,5\%$ , широты распределения популяций эритроцитов по измеряемым параметрам от  $12,55 \pm 0,08\%$  до  $13,9 \pm 0,05\%$ . При этом отмечено снижение средней концентрации гемоглобина от  $331,7 \pm 0,9$  г/л до  $313,91 \pm 0,75$  г/л и средних значений содержания гемоглобина в эритроците от  $28,25 \pm 0,3$  пг до  $26,9 \pm 0,2$  пг. Средние арифметические значения концентрации тромбоцитов снизились от  $208,8 \pm 16,3 \times 10^9/\text{л}$  до  $0,8 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$ , лейкоцитов от  $6,02 \pm 0,31 \times 10^9/\text{л}$  до  $2,84 \pm 0,66 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоцитов от  $2,1 \pm 0,12 \times 10^9/\text{л}$  до  $0,5 \pm 0,13 \times 10^9/\text{л}$ , моноцитов от  $0,61 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$  до  $0,28 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$ . В процессе хранения образцов трансфузионной среды в течение 35 суток отмечался почти двукратный рост модуля Юнга эритроцитов от  $1,81 \pm 0,02$  Кра до  $3,23 \pm 0,02$  Кра. Пятый подраздел посвящен изучению изменений морфометрических показателей эритроцитов трансфузионной среды в процессе хранения методом атомно-силовой микроскопии. Установлено, что форма консервированных эритроцитов в процессе длительного хранения по данным АСМ претерпевает изменения, аналогичные изменениям, выявляемым при оптической микроскопии. Выявлено отрицательное значение коэффициента корреляции модуля Юнга и диаметра эритроцитов ( $r = -0,52$ ), но прямая корреляция модуля Юнга и толщины эритроцитов ( $r = 0,29$ ).

В целом, говоря об экспериментальной части, следует отметить, что рецензируемая работа характеризуется хорошим методическим уровнем проводившихся исследований и большим объемом полученных автором данных.

Замечание: некорректное представление статистических данных. Лучше было ограничиться уровнями значимости, принятыми для биологии и медицины (95%, 99% и 99,9%). Не соблюдение этого привело к появлению в тексте диссертации многочисленных  $p < 0,000$  (стр. 51, табл. 2 на стр. 52, стр. 53, стр. 54, табл. 3 на стр. 54, стр. 55, стр. 63, стр. 76, стр. 77, стр. 79, стр. 80, стр. 93, стр. 94, – где вообще фигурирует запись  $p < 000$ , стр. 96). Получается вероятность отрицания «0» гипотезы – 100%, чего быть не может. Кроме того, графики в работе лучше было бы представить с приведением доверительного интервала. В главе обсуждение результатов исследования (стр. 104, 12-я строка сверху) доверительный интервал превысил среднее значение.

Положения, выносимые на защиту, представленные выводы и практические рекомендации обоснованы. Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов обусловлена большим объемом обработанного материала, использованием воспроизводимой методологии и корректными методами статистической обработки. Содержание автореферата и опубликованных работ полностью отражают основные

положения диссертации. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленной цели и задачам, корректны и адекватны полученным результатам. Материалы диссертационной работы хорошо апробированы на ряде конференций, в том числе, международных.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Полученные автором результаты имеют выраженную практическую значимость, поскольку предлагают дополнительные критерии для оценки качества трансфузионных сред. Предлагается использовать такие параметры, как морфометрия (измерение диаметра и высоты эритроцитов) и определение механических свойств (измерение модуля Юнга). Анализ изученных параметров образцов эритроцитсодержащей среды даст возможность оптимизации сроков и условий хранения контейнеров в банках крови трансфузиологической службы. Разработанные диссертантом методы определения механических и морфометрических показателей эритроцитов с помощью АСМ рекомендуются к внедрению в отделе контроля качества ГУЗ «Ульяновская областная станция переливания крови» Минздрава Ульяновской области.

#### **Вопросы:**

- (1) Автор проводит измерения ригидности мембран на высушенных эритроцитах. Насколько такие измерения являются физиологически адекватными?
- (2) Не является ли измерение «сухих» эритроцитов причиной артефактов? Поскольку в выводах 1 и 2 и начальное значение ригидности мембран эритроцитов и значение ригидности после 35 суток хранения совпадают с точностью до второго знака после запятой и даже по величине доверительного интервала.

Заданные вопросы и высказанные выше замечания не носят принципиального характера и не снижают несомненной высокой научной значимости работы.

#### **Заключение.**

Актуальность и новизна полученных данных, высокий методический уровень работы, ее теоретическая и практическая значимость позволяют сделать заключение о том, что диссертационная работа Ламзина Ивана Михайловича «Динамика структурно-функциональных показателей эритроцитов трансфузионной среды в процессе хранения по данным атомно-силовой микроскопии», соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Отзыв обсужден и единогласно одобрен на заседании кафедры биофизики Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского 8 июня 2017 г., протокол заседания № 15.

Отзыв составлен профессором кафедры биофизики ННГУ Института биологии и биомедицины, ведущим научным сотрудником научно-образовательного центра «Физика твердотельных наноструктур», д.б.н. Плесковой С.Н.

Профессор кафедры биофизики ННГУ  
Института биологии и биомедицины,  
ведущий научный сотрудник  
научно-образовательного центра  
«Физика твердотельных наноструктур», д.б.н.

С.Н. Плескова

Заведующий кафедрой биофизики ННГУ  
Института биологии и биомедицины, д.б.н.

В.А. Воденеев

Плескова Светлана Николаевна - профессор кафедры биофизики ННГУ Института биологии и биомедицины, ведущий научный сотрудник научно-образовательного центра «Физика твердотельных наноструктур», доктор биологических наук ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Адрес: 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,

e-mail: [pleskova@mail.ru](mailto:pleskova@mail.ru)

тел. +79063505280

Воденеев Владимир Анатольевич - заведующий кафедрой биофизики ННГУ Института биологии и биомедицины, доктор биологических наук ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Адрес: 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,

e-mail: [v.vodeneev@mail.ru](mailto:v.vodeneev@mail.ru)

тел. +7(831)462-32-15



Плесковой С.Н.  
Воденеева В.А.  
Заведующий кафедрой биофизики ННГУ  
Л.Ю. Черноморская  
Тел. 462-30-21